

Preparación de Nanopartículas de Pt y Pt-Ru Soportadas sobre Óxido de Grafeno Reducido para el Desarrollo de Sensores Amperométricos Serigrafiados para la Detección de H_2O_2 .

Marcela Ayala-Toro*.

Departamento de Química, Universidad del Valle, A.A. 25360, Santiago de Cali, Colombia.

PALABRAS CLAVE: Electroodos serigrafiados, Sensores amperométricos, Nanohíbridos de Óxido de grafeno y Platino, Peróxido de Hidrogeno

RESUMEN: En este trabajo se describe el desarrollo de un sensor amperométrico nanoestructurado para la detección de H_2O_2 . La estrategia se basa en el uso de nanomateriales híbridos inmovilizados sobre electrodos serigrafiados (ES). Los nanomateriales híbridos, i.e.: nanopartículas de Platino (PtNps) soportadas sobre óxido de grafeno reducido (rGO) y nanopartículas de Platino y Rutenio (Pt-Ru Nps) soportado sobre rGO, se prepararon mediante la coreducción básica asistida por microondas de los metales y el GO, empleando polietilenglicol. Los ES se modificaron con una dispersión del híbrido de PtNPs/rGO o Pt-Ru NPs/rGO en una disolución de cloruro de polidialildimetil amonio (PDDA). Se demostró mediante MET que la incorporación de rutenio da lugar a nanopartículas de menor diámetro (1.8 nm) comparadas con las de PtNPs (2.6 nm), lo cual permite obtener sensores con mejores características analíticas. Se estudiaron diferentes variables experimentales concernientes tanto al diseño del sensor, como al proceso de detección para obtener un comportamiento analítico óptimo. Los sensores desarrollados, muestran buena reproducibilidad (RSD 4.4%, $n = 10$) y sensibilidad (9441 ± 305) $\mu\text{A L mol}^{-1}$, con un buen límite de detección ($9.38 \mu\text{mol L}^{-1}$) para los ES modificados con híbridos de PtNPs/rGO y (RSD 3.3%, $n = 10$), sensibilidad de 13052 ± 147 $\mu\text{A L mol}^{-1}$ y un límite de detección de ($3.39 \mu\text{mol L}^{-1}$) para los ES modificados con híbridos de Pt-Ru NPs/rGO. Las interacciones del nanomaterial híbrido, dispersado en el polímero policatiónico, con la superficie de carbono de los ES permite la reutilización de los sensores por varias medidas, convirtiendo esta tecnología en una alternativa barata a los electrodos sólidos.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se ha utilizado extensamente en diversos campos como el farmacéutico, ambiental, textil, fabricación de alimentos y productos químicos, debido a sus fuertes propiedades oxidantes y reductoras¹⁻³. Por esta razón, llevar a cabo la monitorización de los niveles de concentración de peróxido de una forma rápida, confiable, sensible y barata, es de gran importancia práctica tanto para fines industriales como académicos, lo que hace imprescindible el desarrollo de sensores para H_2O_2 sencillos, rápidos, sensibles, selectivos y de bajo costo.

Hasta ahora, se ha dedicado mucho esfuerzo a la detección rápida y sensible del H_2O_2 basada en diferentes principios analíticos. Diversos métodos espectrofotométricos⁴, volumétricos⁵, fluorofotométricos⁶, quimioluminiscentes^{7,8} y electroquímicos⁹⁻¹¹ se han desarrollado y aplicado a su determinación. Entre estos se destacan los electroquímicos debido a ventajas como son: instrumentación sencilla, miniaturización, alta sensibilidad, selectividad y rápida respuesta. La investigación actual sobre la detección electroquímica de H_2O_2 se ha centrado principalmente en las modificaciones

de los electrodos empleados para tal fin, utilizando una gran variedad de materiales¹²⁻¹⁵, donde en los últimos años los nanomateriales de carbono han tomado especial importancia para esta aplicación¹⁶. De las investigaciones desarrolladas, las realizadas con grafeno y su óxido representan un campo prometedor en el desarrollo de la ciencia y la tecnología de los nanomateriales bidimensionales (2D), debido a su gran superficie específica, extraordinaria flexibilidad mecánica, estabilidad química, conductividad eléctrica y térmica superior¹⁷⁻¹⁹.

Los nanomateriales de carbono se emplean también en combinación con diferentes nanopartículas metálicas, en lo que se conoce comúnmente como "nanomateriales híbridos", los cuales se vienen utilizando en el desarrollo de sensores y biosensores²⁰.

Por otro lado, los métodos de microfabricación de sensores mediante serigrafía han incursionado como herramientas fuertes en la producción en masa de electrodos de película gruesa^{21,22}. Este proceso implica la deposición secuencial de capas de diferentes tintas conductoras o no conductoras sobre una variedad de

sustratos inertes. Los electrodos serigrafiados (ES) son herramientas versátiles que se pueden utilizar en diferentes aplicaciones, de acuerdo con las necesidades analíticas requeridas, debido a la ventaja de su fácil modificación²³⁻²⁵. Los ES pueden modificarse incorporando enzimas, ácidos nucleicos, metales, polímeros o mediadores electroquímicos, directamente en la tinta o posteriormente mediante inmovilización por gota, para dar así lugar al desarrollo de diferentes sensores y biosensores electroquímicos con propiedades mejoradas. En este sentido, la unión de materiales carbonaceos (e.g., grafeno, óxido de grafeno, nanotubos de carbono etc) con nanopartículas metálicas representan uno de los materiales más prometedores con el cual modificar los electrodos serigrafiados, ya que por sus excelentes propiedades pueden mejorar notoriamente la eficiencia de dichos sistemas electroanalíticos.

En el presente trabajo, se muestra la fabricación de sensores amperométricos nanoestructurados para la detección de H_2O_2 , basados en el uso de dos nanomateriales híbridos diferentes: nanopartículas de platino soportadas sobre óxido de grafeno reducido (PtNp/rGO) y nanopartículas Pt-Ru soportadas sobre óxido de grafeno reducido (Pt-Ru Nps/rGO). La modificación de los ES se optimizó para la detección de H_2O_2 . Se presentan y discuten los resultados de la caracterización estructural y electroquímica de las nanopartículas/rGO, asimismo del efecto de los nanomateriales en la eficiencia del sensor. Las características analíticas del sensor desarrollado se determinaron en términos de sensibilidad, rango lineal, reproducibilidad y límite de detección. Finalmente, el sensor se aplicó a la cuantificación de H_2O_2 en una crema dental comercial con un contenido reportado de peróxido de hidrógeno

■ SECCION EXPERIMENTAL

Reactivos utilizados. Etanol absoluto, peróxido de hidrogeno 30% (p/v), ácido cloroplatínico hexahidratado ≥ 37.50 % base Pt, tricloruro de rutenio, fosfato dibásico de sodio anhidro, solución de poli (cloruro de dialildimetilamonio) PDDA 20 % (p/p) en agua, Nafion[®] ~ 5% mezcla de alcoholes alifáticos de bajo peso molecular, ácido clorhídrico 37%, ácido acético 99.8%, polietilenimina (PEI) y quitosano de bajo peso molecular fueron suministrados por Sigma-Aldrich. Ácido sulfúrico, 2-propanol y polvo fino de grafito fueron suministrados por Merck. Etilenglicol, nitrato de sodio y permanganato de potasio fueron suministrados por Mallinckrodt. Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico. El agua empleada fue purificada en un sistema millipore Milli-Q. Para evitar cambios en la concentración del H_2O_2 por descomposición, todas las soluciones empleadas fueron preparadas en el momento del estudio.

Instrumentos y electrodos. Para las medidas electroquímicas se empleó un potenciostato-galvanostato ECO Chemie Autolab PGSTAT204 usando el paquete de software Nova 1.11. Los electrodos serigrafiados de carbono (ES) se imprimieron con una configuración típica de tres

electrodos en una máquina de serigrafía semiautomática (Industrias DERJOR) sobre un sustrato plástico. Los ES están compuestos de un electrodo auxiliar y un electrodo de trabajo ($\varnothing = 4.4$ mm) ambos de carbono y un electrodo de pseudo-referencia de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl). Todos los potenciales obtenidos se han referenciado al electrodo serigrafiado de Ag/AgCl (pseudo-referencia).

Para la caracterización del GO y de los nanomateriales híbridos se emplearon las técnicas: Microscopía electrónica de barrido (MEB) con módulo de espectroscopia de dispersión de energía (EDS) (JEOL JSM-6490LV), Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) (JEOL JEM-1011), espectrometría Raman (DXRTM2 SmartRaman) y espectrometría FTIR (IRAffinity-1S, Shimadzu). Los diámetros de las PtNps y Pt-Ru NPs en las imágenes MET fueron determinados con el software ImageJ.

Otros equipos y materiales empleados fueron: equipo de filtración al vacío de Wheaton, membranas de filtración (tamaño de poro $0.8 \mu\text{m}$) de Schleicher & Schuell, horno microondas Whirlpool S-11-WMS07ZDHS con una potencia máxima de 700 W, baño ultrasónico Branson 1510R-MTH y centrifuga Hettich EVA 20.

Preparación de GO. Para la preparación de GO se utilizaron dos métodos de síntesis que han sido previamente reportado en la literatura. El primero es una mejora del método de Hummers (GO-H)²⁶ donde se adicionaron 69 mL de H_2SO_4 concentrado a una mezcla de grafito (3.0 g) y NaNO_3 (1.5 g). La mezcla se llevó a 0°C usando un baño de hielo. Posteriormente se adicionó KMnO_4 (9.0 g) en pequeñas porciones para conservar la temperatura de la reacción por debajo de 20°C . La reacción se calentó a 35°C y se agitó durante 7 h. Una porción adicional de KMnO_4 (9.0 g) fue adicionada y la mezcla se mantuvo en agitación durante 12 h a 35°C . Finalmente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le agregó 400 mL de agua con H_2O_2 30% (3.0 mL). El sólido obtenido fue purificado mediante centrifugado, filtrado y lavados con etanol, HCl 30% y agua

A partir del segundo método se obtuvo GO vía oxidación de grafito minimizando los tiempos de reacción mediante un baño ultrasónico (GO-U)²⁷. Se agregaron grafito (0.5 g) y NaNO_3 (0.5 g) a 23 mL de H_2SO_4 . La mezcla se agitó en un baño de hielo manteniendo la temperatura por debajo de 20°C y se agregó 3.0 g de KMnO_4 en pequeñas porciones. Enseguida, la mezcla se colocó en un baño ultrasónico durante 2 h a temperatura ambiente y se diluyó con 40 mL de agua. Para finalizar se agregaron a la mezcla 100 mL de agua con 3 mL de H_2O_2 30%. La suspensión se filtró y se lavó con una solución acuosa de HCl 1:10; para remover el ácido se realizó un último lavado con abundante agua. El sólido resultante se secó a 80°C durante 24 h.

Preparación de PtNps/rGO y Pt-Ru Nps/rGO. El nanomaterial híbrido se preparó utilizando un procedimiento previamente reportado para nanotubos de carbono²⁸, pero adaptado a GO como soporte para las nanopartículas debido a las similitudes que presentan los materiales de carbono. Las PtNps fueron depositadas sobre

el GO por el método de etilenglicol con calentamiento asistido por microondas. En un erlenmeyer se colocaron 25 mL de etilenglicol, 40 mg de GO, 2.5 mL de una solución acuosa de $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mmol L^{-1} y 0.4 mL de KOH 0.4 mol L^{-1} , el recipiente se sumergió en un baño de ultrasonido hasta la disolución completa del GO. El erlenmeyer con la dispersión se colocó en un microondas y se calentó durante 50 s. La suspensión resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró y se lavó con abundante agua. Finalmente, el sólido obtenido se secó a 80 °C por 12 h.

El material bimetalico de Pt-Ru Nps/rGO se obtuvo usando el mismo procedimiento. Se partió de una mezcla de 40 mg de GO, 1.9 mL de $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.75 mL de RuCl_3 y 0.75 mL de KOH 0.04 mol L^{-1} dispersada en 25 mL de etilenglicol.

Caracterización de GO, rGO, PtNps/rGO y Pt-Ru Nps/rGO. (Hummers modificado y Ultrasonido). El estudio morfológico y estructural del GO, así como del rGO obtenido por ambos métodos se realizó mediante las espectroscopias Raman, y FTIR.

La caracterización morfológica de los nanomateriales híbridos fue realizada mediante las técnicas MEB y MET. El tamaño de PtNps y Pt-Ru Nps así como su distribución sobre el óxido de grafeno reducido, fue examinado mediante la técnica MET. Las muestras se prepararon dispersando los nanomateriales mediante ultrasonido en etanol absoluto y colocando una gota de la dispersión sobre las rejillas para MET. El contenido metálico de los nanomateriales y la pureza del GO y la de los nanomateriales híbridos fueron determinados mediante los análisis por EDS en el MEB.

Medidas Electroquímica. Todas las medidas se obtuvieron depositando 60 μL de analito sobre la superficie modificada de los ES, siempre a temperatura ambiente (24 ± 0.5) °C

Las respuestas amperométricas se obtuvieron fijando un potencial de +0.35 V para el electrodo de trabajo (vs electrodo de pseudoreferencia de Ag/AgCl) y registrando las señales durante 60 s. El electrolito soporte utilizado fue una solución tampón de fosfato (TF) 0.1 M a pH = 7.0. Las señales voltamperométricas se obtuvieron utilizando voltamperometría cíclica (VC) entre un potencial de +0.8 V a -0.3 V a 100 mV s^{-1} .

Análisis de una muestra real. Con el fin de determinar la aplicabilidad del sensor de H_2O_2 en muestras reales se analizó una crema dental blanqueadora con un contenido reportado de peróxido del 2.0%.

Para obtener las medidas amperométricas, se diluyó 33.6 mg de crema en 10 mL de TF y se tomaron 60 μL de muestra para realizar todas las medidas del estudio.

■ RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización de GO y rGO (Hummers y ultrasonido). El análisis FTIR de los GO obtenidos mostraron bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales esperados, de acuerdo análisis previos reportados en la literatura ^{29,30}.

En la Figura 1 se observa los espectros FTIR para GO-H y

GO-U; para ambos se obtuvieron bandas anchas entre 2700-3500 cm^{-1} las cuales son propias de las vibraciones de estiramiento O-H, que pueden corresponder tanto a grupos hidroxilo o carboxilo, así como a la presencia de agua fisisorbida en el material. Los picos a 1037 cm^{-1} en ambos espectros corresponden a la vibración de tensión C-O, los picos a 1732 cm^{-1} y 1716 cm^{-1} para GO-H y GO-U respectivamente corresponde a la vibración de tensión C=O, los picos a 1616 cm^{-1} para GO-H y 1618 cm^{-1} para GO-U corresponde a la vibración de tensión C=C.

Se utilizó la espectrometría Raman para determinar las características estructurales de los materiales carbonosos sin destrucción de las muestras. Los espectros Raman para el GO-H y GO-U mostraron bandas D de mayor intensidad con respecto a sus bandas G y la banda D del grafito, lo que demuestra estructuras más desordenada (aumento en los dominios sp^3)³¹. Para GO-H la banda D está localizada a 1320 cm^{-1} y la banda G a 1585 cm^{-1} . El GO-U muestra una banda D a 1313 cm^{-1} y una banda G a 1577 cm^{-1} . La banda G de GO-H se encuentra desplazada a mayores longitudes de onda que la banda G de GO-U, lo que indica mayor formación de defectos en la hoja grafitica debido al proceso de oxidación (reducción en los dominios sp^2)³² cuando se utiliza el método de Hummers en comparación con el de Ultrasonido. (Figura 2a y c)

El rGO-H modificado mostró una banda D a 1313 cm^{-1} y una banda G a 1590 cm^{-1} mientras que el rGO-U bandas en 1314 cm^{-1} y 1597 cm^{-1} para D y G respectivamente. Todos los materiales mostraron desplazamientos de la banda G a mayores longitudes de onda en comparación con la banda G del grafito, esto confirmó la pérdida de los dominios sp^2 del grafito al oxigenarse (Figura 2a-d).

Caracterización de PtNps/rGO y Pt-Ru Nps/rGO. En la Figura 3 se muestra las micrografías MET de los nanomateriales; las imágenes muestran que en general se obtuvieron partículas uniformemente distribuidas sobre la superficie del rGO aunque con presencia de algunos aglomerados de nanopartículas en los materiales que solo contienen PtNps (Figura 3a y b). Los materiales bimetalicos (Figura 3c y d) mostraron menos sitios con aglomerados además de un menor tamaño de partícula y una mejor distribución sobre la superficie del rGO.

El diámetro promedio de las nanopartículas en PtNps/rGO-H fue 2.8 nm con un 96% de las partículas entre 2 y 4 nm; el diámetro promedio de las nanopartículas en PtNps/rGO-U fue 2.6 nm con un 90% entre 2 y 4 nm.

En cuanto a los híbridos bimetalicos el diámetro promedio de las nanopartículas metálicas en Pt-Ru Nps/rGO-H fue 1.9 nm con un 90% de las partículas entre 1.5 y 2.6 nm; para Pt-Ru Nps/rGO-U el diámetro promedio de las nanopartículas fue 1.8 nm con un 93% de las nanopartículas entre 1.25 y 2.5 nm (histogramas de frecuencias en la Figura 3).

Los resultados de las micrografías MEB así como el análisis EDS de todos los materiales muestran que se obtuvieron GO y nanomateriales híbridos de pureza considerable. (Figura S1)

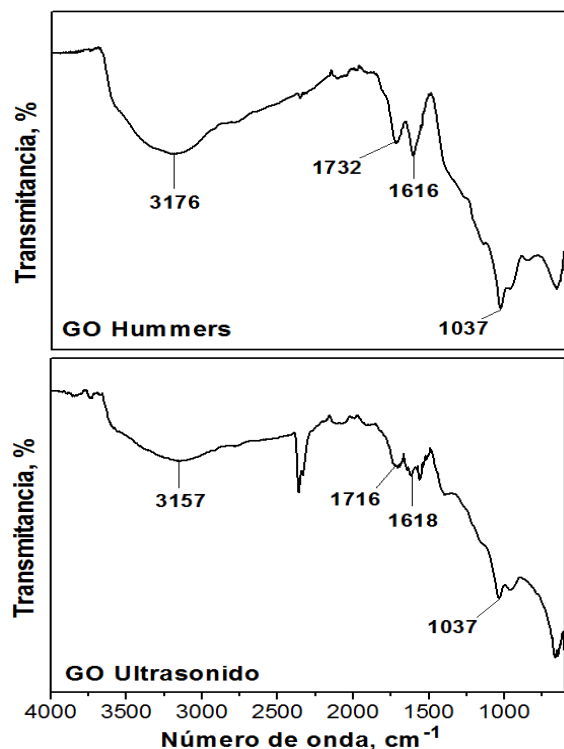


Figura 1. Espectros FTIR de GO-H y GO-U.

Optimización de las dispersiones de PtNps/rGO y Pt-Ru Nps/rGO. Se evaluaron diferentes soluciones de polímeros: quitosano 0.1% (p/v) en ácido acético 1% (v/v), nafion 1% (p/v) en etanol, nafion 1% (p/v) en etanol: agua, nafion 1% (p/v) en isopropanol, PEI 1% (p/v) en agua y PDDA 1% (p/v) en TF, para determinar cuál de estos

polímeros daba lugar a dispersiones más homogéneas y estables. Se determinó que la mejor dispersión se obtuvo con la solución de PDDA 1% en TF, por otro lado, gracias a las características del PDDA este se comportó como un adhesivo para fijar el nanomaterial sobre la superficie del ES actuando como una membrana protectora que impide pérdidas significativas de los nanomateriales híbridos lo que permitió realizar varias medidas sobre un mismo sensor, lo cual puede disminuir aún más los costos del análisis.

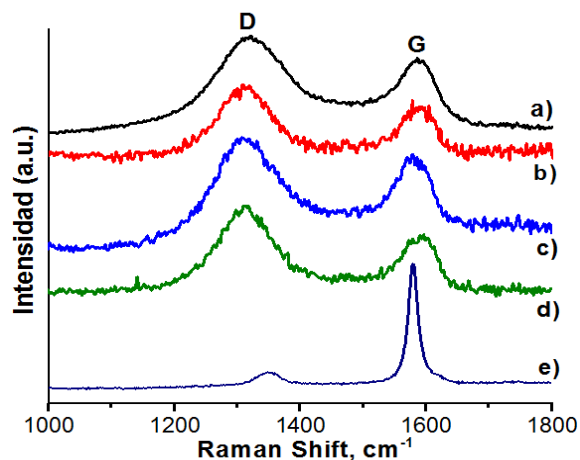


Figura 2. Espectros Raman de GO obtenido por el método de a) Hummers modificado, c) Ultrasonido, rGO obtenido por el método de b) Hummers modificado, d) Ultrasonido y e) grafito

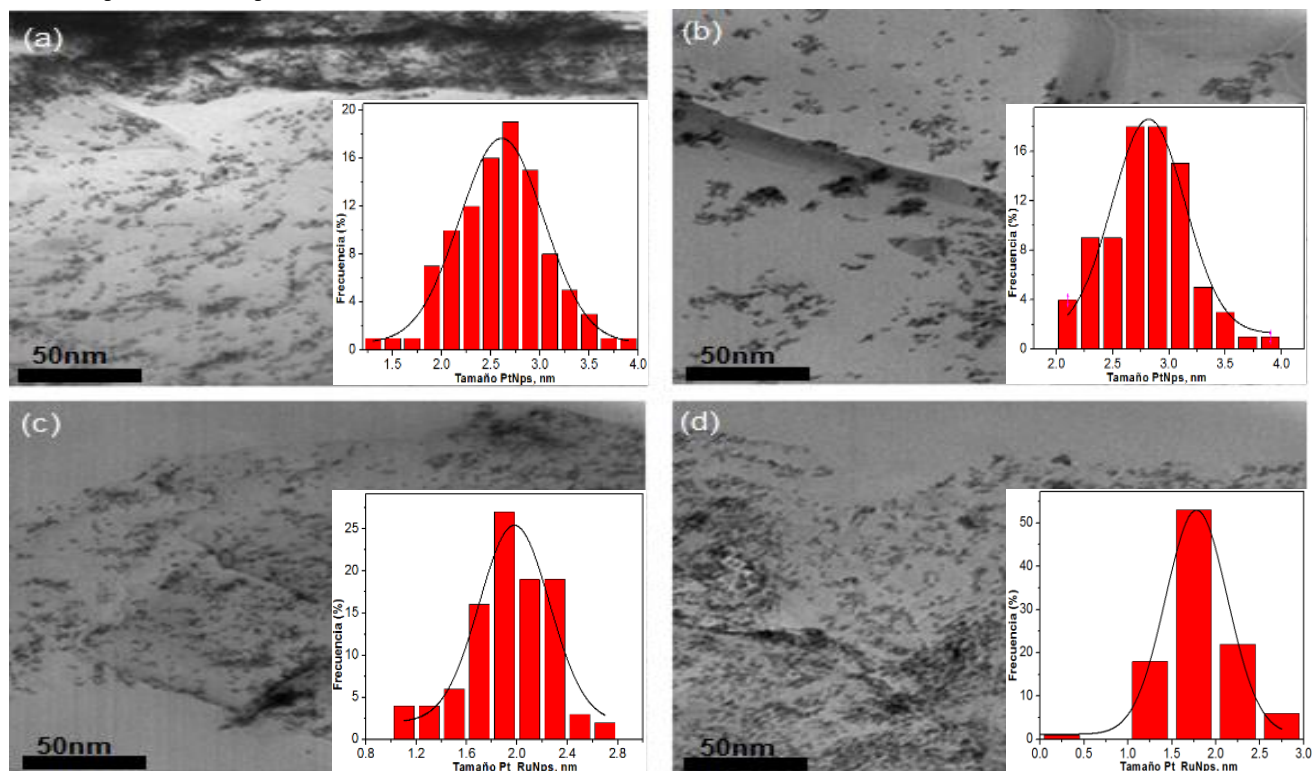


Figura 3. Micrografías MET de (a) PtNps/rGO-H, (b) PtNps/rGO-U, (c) Pt-Ru Nps/rGO-H y (d) Pt-Ru Nps/rGO-U

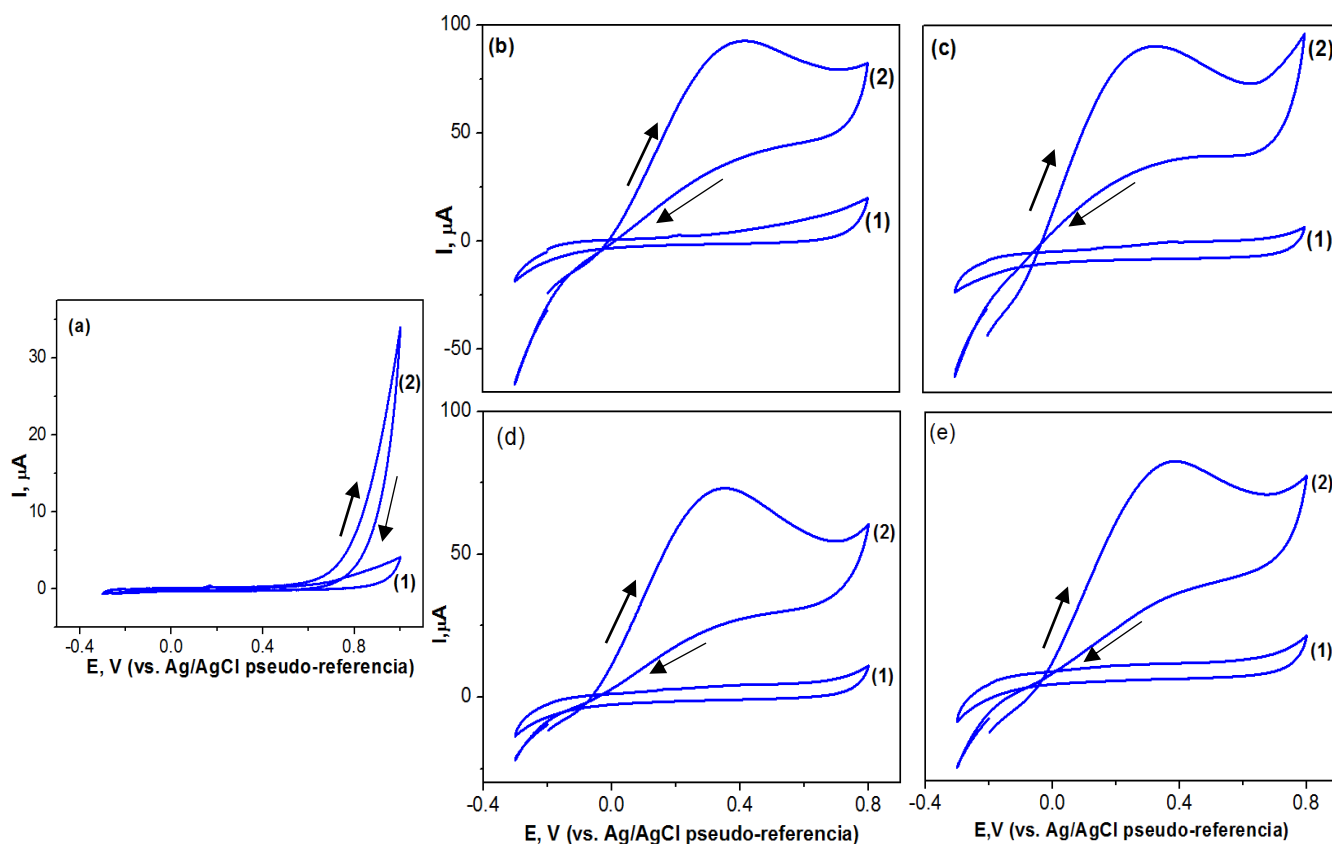


Figura 4. Voltamperogramas cíclicos de (a) ES desnudo, ES modificados con (b) PtNps/rGO H, (c) PtNps/rGO U, (d) Pt-Ru Nps/rGO H y (e) Pt-Ru Nps/rGO U, (1) TF 0.1 mol L⁻¹ pH = 7.0, (2) 2.5 mmol L⁻¹ H₂O₂ en TF 0.1 mol L⁻¹, pH = 7.0

PtNps/rGO-ES y Pt-Ru Nps/rGO-ES (Hummers y Ultrasonido) como sensor de H₂O₂. El H₂O₂ es un subproducto de la reacción catalítica de las enzimas oxidasas y un sustrato de las peroxidasas las cuales son de gran importancia en procesos biológicos y en el desarrollo de biosensores³³⁻³⁵. Además, es una sustancia de uso común en diferentes sectores de como: farmacéutico, clínico, textil etc. por lo tanto la necesidad de determinar los niveles de concentración del H₂O₂, es de interés crucial.

Caracterización de PtNps/rGO-ES y Pt-Ru Nps/rGO-ES. (Hummers y Ultrasonido) La caracterización electroquímica de los ES modificados se realizó mediante voltamperometría cíclica. La Figura 4a muestra un voltamperograma cíclico (VC) obtenido para un ES sin modificar, mientras las Figuras 4b-e muestran VCs registrados para los ES que fueron modificados con los diferentes nanomateriales. Las medidas voltamperométricas se llevaron a cabo con TF 0.1 mol L⁻¹ pH = 7.0 y H₂O₂ 2.5 mM. Se observaron menores sobrepotenciales en la oxidación del H₂O₂ cuando se realizaron las medidas con ES modificados con los nanomateriales híbridos. Se obtuvo que, para los ES modificados, la corriente correspondiente a la oxidación de H₂O₂ empezó alrededor de 0.0 V (vs. Ag/AgCl pseudo-referencia). Teniendo en cuenta que para el ES desnudo, la corriente correspondiente a la oxidación del H₂O₂ empezó aproximadamente en +0.6 V, la presencia del Pt y el Pt-Ru en los nanomateriales híbridos produjo una importante acción catalítica para el análisis del H₂O₂.

La Figura 5 muestra el comportamiento de la oxidación del H₂O₂ dependiendo del potencial que se le aplicó y la cantidad de nanomaterial depositado sobre el electrodo. Se observó que en general para todos los materiales, la mayor corriente se generó al depositar 2 μL de la dispersión (1 mg/mL) sobre el ES, con excepción del PtNps/rGO-U (Figura 5b) que alcanzó su máxima corriente cuando se depositó 4 μL de la dispersión sobre el ES.

De acuerdo con el comportamiento mostrado por la corriente de oxidación al usar cada uno de los nanomateriales, se observó que las corrientes máximas se alcanzaron entre +0.25 V y +0.3 V y a potenciales mayores mostraron un leve descenso; por lo tanto, se escogió +0.3 V como el potencial ideal con el cual se llevaron a cabo todas las medidas amperométricas. Las modificaciones de los ES se realizaron con las cantidades de nanomaterial que mostraron las mayores corrientes para cada caso.

Características analíticas de PtNps/rGO-ES y Pt-Ru Nps/rGO-ES para la detección de H₂O₂ (Hummers y Ultrasonido). Se tomaron en cuenta diferentes aspectos para evaluar el rendimiento de PtNps/rGO-ES (Hummers y ultrasonido) y Pt-Ru Nps/rGO-ES (Hummers y ultrasonido) como sensores para la detección de H₂O₂. Primero, se evaluó la repetitividad de la respuesta electroquímica, para esto se realizaron 10 medidas amperométricas sucesivas sobre el mismo electrodo con 2.5 mmol L⁻¹ H₂O₂.

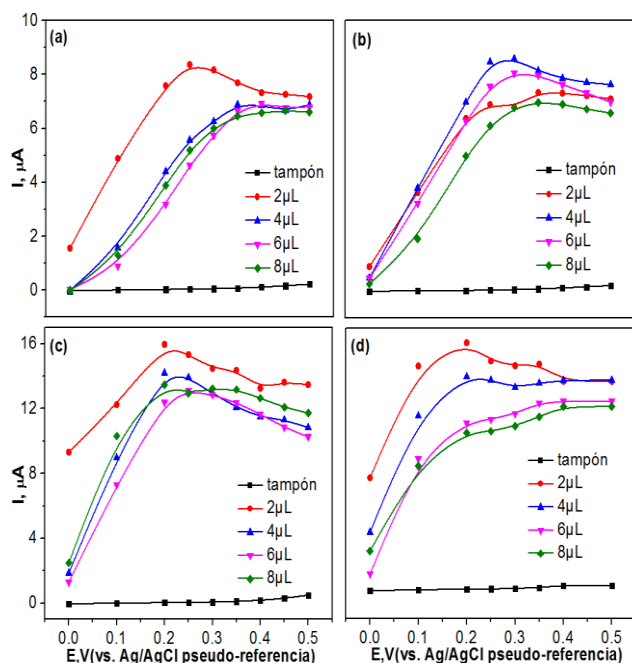


Figura 5. Señales de corriente a diferentes potenciales y diferentes cantidades de nanopartículas. $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ en tampón fosfato $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ pH} = 7$, para ES modificados con (a) PtNps/rGO H (b) PtNps/rGO U (c) Pt-Ru Nps/rGO H (d) Pt-Ru Nps/rGO U

El electrodo se lavó entre medidas con TF $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ pH} = 7$. Se obtuvieron menores desviaciones estándares relativas (R.S.D) para los nanomateriales con Pt-Ru Nps; para Pt-Ru/rGO-H-ES se obtuvo 2.6% y para Pt-Ru/rGO-U-ES 4.6%.

De la misma forma, se realizaron medidas amperométricas en 10 ES distintos con $2.5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$. Estos análisis presentaron R.S.D de 3.1% para PtNps/rGO-H-ES, 2.1% PtNps/rGO-U-ES, 4.1% para Pt-Ru Nps/rGO-H-ES y 3.4% Pt-Ru Nps/rGO-U-ES. Los valores obtenidos fueron indicadores de la buena estabilidad que poseen los sensores además de la posibilidad de ser reutilizados (Tabla 1).

Enseguida se estudió la reproducibilidad de los ES modificados con los nanomateriales obtenidos. Se construyeron 10 curvas de calibración para el H_2O_2 en un rango entre 0.01 mmol L^{-1} y 0.6 mmol L^{-1} . El R.S.D de las 10 pendientes se utilizó como criterio para evaluar la reproducibilidad de los análisis. Se obtuvieron valores de R.S.D de 7.3% para PtNps/rGO-H-ES, 4.4% para PtNps/rGO-U, 8.1% para Pt-Ru Nps/rGO-H-ES y 3.3% para Pt-Ru Nps/rGO-U-ES. De acuerdo con los resultados, los sensores que mostraron mejor reproducibilidad son en los que se utilizó rGO-U como soporte para las nanopartículas metálicas. También se construyeron curvas de calibración para cada sensor nanoestructurado con los diferentes materiales, en un rango de 0.01 mmol L^{-1} a 10 mmol L^{-1} (Figura S2). Los sensores modificados con nanomateriales que contienen Pt-Ru tienen mayores pendientes, por lo tanto, son los que poseen mayor sensibilidad (Tabla 2). Se

calcularon los límites de detección para cada uno siguiendo el criterio 3 s/m , se obtuvieron L.D de $9.38 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para PtNps/rGO-H-ES, $1.95 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ PtNps/rGO-U-ES, $6.95 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Pt-Ru Nps/rGO-H-ES y $3.39 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Pt-Ru Nps/rGO-U-ES.

Análisis de la muestra real. Por último, para determinar el desempeño del sensor con una muestra real, se examinó una crema dental blanqueadora con un contenido de H_2O_2 del 2%. Para los análisis se trabajó con una dilución de la muestra con 2 mmol L^{-1} de H_2O_2 . De la misma manera se realizaron pruebas con otra crema dental de la misma marca, pero sin contenido de peróxido para determinar la presencia de posibles efectos de matriz. La determinación del contenido de H_2O_2 en la muestra real se obtuvo interpolando las señales amperométricas obtenidas ($n=5$, R.S.D = 3.4) a la curva de calibración correspondiente construida a partir de soluciones estándar. Se calculó el intervalo de confianza con un nivel de confianza del 95% obteniendo un valor de $(1.9 \pm .13) \text{ mmol L}^{-1}$. El porcentaje de error obtenido, teniendo en cuenta el contenido de H_2O_2 reportado, fue de 4.1%. Los resultados mostraron un buen desempeño de los sensores cuando se utilizó para la detección de H_2O_2 en una muestra real.

CONCLUSIÓN

Se construyó un sensor amperométrico a partir de la nanoestructuración de ES con nanomateriales híbridos de PtNps y Pt-Ru Nps cuyo soporte es rGO y se logró aplicar para una detección sencilla, rápida y sensible de H_2O_2 . Se determinó que los ES modificados con híbridos bimetalicos de Pt-Ru son los que muestran las mejores características electroanalíticas.

Se obtuvo para estos una alta sensibilidad, bajos límites de detección y un amplio rango lineal en los análisis para la detección de H_2O_2 . Adicionalmente se realizaron estudios que mostraron la buena selectividad, reproducibilidad y estabilidad de los sensores, lo que los convierte en una excelente plataforma a partir de la cual construir biosensores enzimáticos para la detección de analitos de gran importancia como la glucosa, lactato etc.

INFORMACION DE LOS AUTORES

E-mail: marcela.ayala@correounivalle.edu.co

AGRADECIMIENTOS

A Colciencias por el soporte financiero a través de la convocatoria 656 “Es tiempo de volver” y a la Universidad del Valle.

ABREVIATURAS

ES, electrodos serigrafados; Nps, nanopartículas; Pt, platino; Ru, rutenio; GO, óxido de grafeno; rGO, óxido de grafeno reducido; GO-H, óxido de grafeno obtenido por el método de Hummers modificado; GO-U, óxido de grafeno obtenido por el método de ultrasonido; PtNps/rGO, nanopartículas de Pt soportadas sobre óxido de grafeno reducido; Pt-Ru Nps/rGO, nanopartículas de Pt y Ru soportadas sobre óxido de grafeno reducido; PtNps/rGO-H-ES, electrodo

serigrafiado modificado con nanopartículas de Pt soportadas sobre óxido de grafeno reducido obtenido por el método de Hummers; PtNps/rGO-U-ES, electrodo serigrafiado modificado con nanopartículas de Pt soportadas sobre óxido de grafeno reducido obtenido por el método de Ultrasonido; Pt-Ru Nps/rGO-H-ES, electrodo serigrafiado modificado con nanopartículas de Pt y Ru soportadas sobre óxido de grafeno reducido obtenido por el método de Hummers; Pt-Ru Nps/rGO-U-ES, electrodo serigrafiado modificado con

nanopartículas de Pt y Ru soportadas sobre óxido de grafeno reducido obtenido por el método de Ultrasonido PDDA, cloruro de polidialildimetil amonio; PEI, polietilenimina; TF, tampón fosfato; VC, voltamperometría cíclica; MEB, microscopía electrónica de barrido; EDS, espectroscopía por dispersión de energía; MET, microscopía electrónica de transmisión; FTIR, Infrarrojo con transformada de Fourier

Tabla.1 Valores de repetibilidad y reproducibilidad para cada ES modificado con los distintos nanomateriales.

Nanomaterial	R.S.D Repetitividad*	RSD Repetitividad**	RSD Reproducibilidad
PtNps/rGO-H-ES	5.8 %	3.1 %	7.3 %
PtNps/rGO-U-ES	6.1 %	2.1 %	4.4 %
Pt-Ru Nps/rGO-H-ES	2.6 %	4.1 %	8.1 %
Pt-Ru Nps/rGO-U-ES	4.6 %	3.4 %	3.3 %

* 1 electrodo, 10 medidas

** 10 electrodos, 1 medida

Tabla.2. Parámetros de la curva de calibración para cada ES modificado con los distintos nanomateriales.

Parámetro	PtNps/rGO-H-ES	PtNps/rGO-U-ES	Pt-Ru Nps/rGO-H-ES	Pt-Ru Nps/rGO-U-ES
IL, mmol L ⁻¹	0.01-10	0.01-10	0.01-10	0.01-10
Pte, µA L mol ⁻¹	9441	8530	11379	13052
o.o, µA	0.403	0.093	0.454	0.0687
r	0.999	0.998	0.999	0.998
L.D, µmol L ⁻¹	9.38	1.95	6.95	3.39
L.C, µmol L ⁻¹	32.75	6.5	23.16	11.29

■ REFERENCIAS

- (1) Barrington, D. J.; Ghadouani, A. Application of Hydrogen Peroxide for the Removal of Toxic Cyanobacteria and Other Phytoplankton from Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 8916–8921.
- (2) Rinsland, C. P.; Coheur, P. F.; Herbin, H.; Clerbaux, C.; Boone, C.; Bernath, P.; Chiou, L. S. Detection of Elevated Tropospheric Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Mixing Ratios in Atmospheric Chemistry Experiment (ACE) Subtropical Infrared Solar Occultation Spectra. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* **2007**, *107*, 340–348.
- (3) Bui, M.-P. N.; Pham, X.-H.; Han, K. N.; Li, C. A.; Kim, Y. S.; Seong, G. H. Electrocatalytic Reduction of Hydrogen Peroxide by Silver Particles Patterned on Single-Walled Carbon Nanotubes. *Sensors Actuators B Chem.* **2010**, *150*, 436–441.
- (4) Fernandes, K. F.; Lima, C. S.; Lopes, F. M.; Collins, C. H. Hydrogen Peroxide Detection System Consisting of Chemically Immobilised Peroxidase and Spectrometer. *Process Biochem.* **2005**, *40*, 3441–3445.
- (5) Brestovisky, A.; KirowaEisner, E.; Osteryoung, J. Direct and Titrimetric Determination of Hydrogen Peroxide by Reverse Pulse Polarography. *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 2063–2066.
- (6) Nakahara, R.; Kashitani, S.; Hayakawa, K.; Kitani, Y.; Yamaguchi, T.; Fujita, Y. Fluorophotometric Determination of Hydrogen Peroxide with Fluorescein in the Presence of Cobalt (II) and Reaction Against Other Reactive Oxygen Species. *J. Fluoresc.* **2009**, *19*, 769–775.
- (7) UCHIDA, S.; SATOH, Y.; YAMASHIRO, N.; SATOH, T. Determination of Hydrogen Peroxide in Water by Chemiluminescence Detection, (II). *J. Nucl. Sci. Technol.* **2004**, *41*, 898–906.

- (8) Janasek, D.; Spohn, U. An Enzyme-Modified Chemiluminescence Detector for Hydrogen Peroxide and Oxidase Substrates. *Sensors Actuators B Chem.* **1997**, *39*, 291–294.
- (9) Xue, W.; Bo, X.; Zhou, M.; Guo, L. Enzymeless Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide at Pd Nanoparticles/porous Graphene. *J. Electroanal. Chem.* **2016**, *781*, 204–211.
- (10) Tujunen, N.; Kaivosoja, E.; Protopopova, V.; Valle-Delgado, J. J.; Österberg, M.; Koskinen, J.; Laurila, T. Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide on Platinum-Containing Tetrahedral Amorphous Carbon Sensors and Evaluation of Their Biofouling Properties. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *55*, 70–78.
- (11) Rismetov, B.; Ivandini, T. A.; Saepudin, E.; Einaga, Y. Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide at Platinum-Modified Diamond Electrodes for an Application in Melamine Strip Tests. *Diam. Relat. Mater.* **2014**, *48*, 88–95.
- (12) Haghighi, B.; Khosravi, M.; Barati, A. Fabrication of Gallium Hexacyanoferrate Modified Carbon Ionic Liquid Paste Electrode for Sensitive Determination of Hydrogen Peroxide and Glucose. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *40*, 204–211.
- (13) Kanyong, P.; Rawlinson, S.; Davis, J. A Non-Enzymatic Sensor Based on the Redox of Ferrocene Carboxylic Acid on Ionic Liquid Film-Modified Screen-Printed Graphite Electrode for the Analysis of Hydrogen Peroxide Residues in Milk. *J. Electroanal. Chem.* **2016**, *766*, 147–151.
- (14) Chen, Y.; Li, Q.; Jiang, H.; Wang, X. Pt Modified Carbon Fiber Microelectrode for Electrochemically Catalytic Reduction of Hydrogen Peroxide and Its Application in Living Cell H₂O₂ Detection. *J. Electroanal. Chem.* **2016**, *781*, 233–237.
- (15) Mutyala, S.; Mathiyarasu, J. A Reagentless Non-Enzymatic Hydrogen Peroxide Sensor Presented Using Electrochemically Reduced Graphene Oxide Modified Glassy Carbon Electrode. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *69*, 398–406.
- (16) Loaiza, O. A.; Lamas-Ardisana, P. J.; Añorga, L.; Jubete, E.; Ruiz, V.; Borghei, M.; Cabañero, G.; Grande, H. J. Graphitized Carbon Nanofiber-Pt Nanoparticle Hybrids as Sensitive Tool for Preparation of Screen Printing Biosensors. Detection of Lactate in Wines and Ciders. *Bioelectrochemistry* **2015**, *101*, 58–65.
- (17) Zhu, Y.; Murali, S.; Cai, W.; Li, X.; Suk, J. W.; Potts, J. R.; Ruoff, R. S. Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 3906–3924.
- (18) Dreyer, D. R.; Park, S.; Bielawski, C. W.; Ruoff, R. S. The Chemistry of Graphene Oxide. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 228–240.
- (19) Becerril, H. A.; Mao, J.; Liu, Z.; Stoltenberg, R. M.; Bao, Z.; Chen, Y. Evaluation of Solution-Processed Reduced Graphene Oxide Films as Transparent Conductors. *ACS Nano* **2008**, *2*, 463–470.
- (20) De Lara González, G. L.; Kahlert, H.; Scholz, F. Catalytic Reduction of Hydrogen Peroxide at Metal Hexacyanoferrate Composite Electrodes and Applications in Enzymatic Analysis. *Electrochim. Acta* **2007**, *52*, 1968–1974.
- (21) Wang, J.; Tian, B.; Nascimento, V. B.; Angnes, L. Performance of Screen-Printed Carbon Electrodes Fabricated from Different Carbon Inks. *Electrochim. Acta* **1998**, *43*, 3459–3465.
- (22) Renedo, O. D.; Alonso-Lomillo, M. A.; Martínez, M. J. A. Recent Developments in the Field of Screen-Printed Electrodes and Their Related Applications. *Talanta* **2007**, *73*, 202–219.
- (23) Kanyong, P.; Pemberton, R. M.; Jackson, S. K.; Hart, J. P. Development of an Amperometric Screen-Printed Galactose Biosensor for Serum Analysis. *Anal. Biochem.* **2013**, *435*, 114–119.
- (24) Lien, T. T. N.; Takamura, Y.; Tamiya, E.; Vestergaard, M. C. Modified Screen Printed Electrode for Development of a Highly Sensitive Label-Free Impedimetric Immunosensor to Detect Amyloid Beta Peptides. *Anal. Chim. Acta* **2015**.
- (25) Gurban, A.-M.; Rotariu, L.; Baibarac, M.; Baltog, I.; Bala, C. Sensitive Detection of Endocrine Disruptors Using Ionic Liquid--Single Walled Carbon Nanotubes Modified Screen-Printed Based Biosensors. *Talanta* **2011**, *85*, 2007–2013.
- (26) Marcano, D. C.; Kosynkin, D. V.; Berlin, J. M.; Sinitskii, A.; Sun, Z.; Slesarev, A.; Alemany, L. B.; Lu, W.; Tour, J. M. Improved Synthesis of Graphene Oxide. *ACS Nano* **2010**, *4*, 4806–4814.
- (27) Esmaeili, A.; Entezari, M. H. Facile and Fast Synthesis of Graphene Oxide Nanosheets via Bath Ultrasonic Irradiation. *J. Colloid Interface Sci.* **2014**, *432*, 19–25.
- (28) Chen, W.-X.; Lee, J. Y.; Liu, Z. Preparation of Pt and PtRu Nanoparticles Supported on Carbon Nanotubes by Microwave-Assisted Heating Polyol Process. *Mater. Lett.* **2004**, *58*, 3166–3169.
- (29) Drewniak, S.; Muzyka, R.; Stolarczyk, A.; Pustelny, T.; Kotyczka-Morańska, M.; Setkiewicz, M. Studies of Reduced Graphene Oxide and Graphite Oxide in the Aspect of Their Possible Application in Gas Sensors. *Sensors* **2016**, *16*, 103.
- (30) Tavakoli, F.; Salavati-Niasari, M.; badiei, A.; Mohandes, F. Green Synthesis and Characterization of Graphene Nanosheets. *Mater. Res. Bull.* **2015**, *63*, 51–57.

- (31) Singh, V.; Joung, D.; Zhai, L.; Das, S.; Khondaker, S. I.; Seal, S. Graphene Based Materials: Past, Present and Future. *Prog. Mater. Sci.* **2011**, *56*, 1178–1271.
- (32) Krishnamoorthy, K.; Kim, G.-S.; Kim, S. J. Graphene Nanosheets: Ultrasound Assisted Synthesis and Characterization. *Ultrason. Sonochem.* **2013**, *20*, 644–649.
- (33) Gatselou, V. A.; Giokas, D. L.; Vlessidis, A. G.; Prodromidis, M. I. Rhodium Nanoparticle-Modified Screen-Printed Graphite Electrodes for the Determination of Hydrogen Peroxide in Tea Extracts in the Presence of Oxygen. *Talanta* **2015**, *134*, 482–487.
- (34) Mundaca-Urbe, R.; Bustos-Ramírez, F.; Zaror-Zaror, C.; Aranda-Bustos, M.; Neira-Hinojosa, J.; Peña-Farfal, C. Development of a Biezymatic Amperometric Biosensor to Determine Uric Acid in Human Serum, Based on Mesoporous Silica (MCM-41) for Enzyme Immobilization. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, *195*, 58–62.
- (35) Kwan, R. C. H.; Leung, H. F.; Hon, P. Y. T.; Cheung, H. C. F.; Hirota, K.; Renneberg, R. Amperometric Biosensor for Determining Human Salivary Phosphate. *Anal. Biochem.* **2005**, *343*, 263–267.

■ CONTENIDO ASOCIADO

Información de Soporte

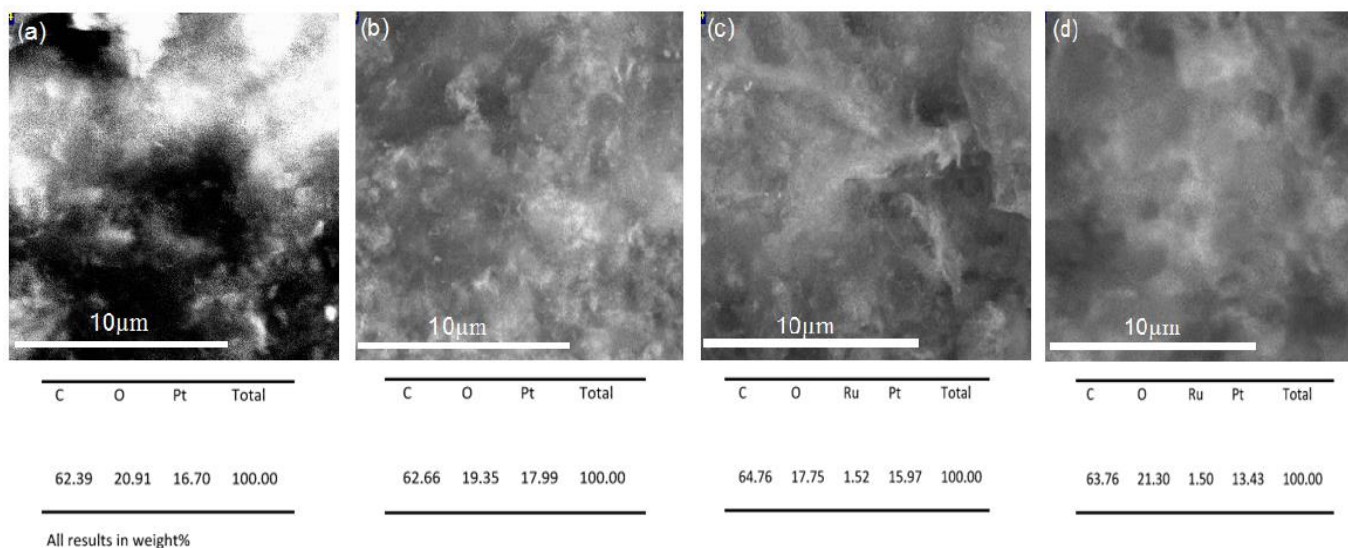


Figura S1. Micrografías MEB y EDS para a) PtNps/rGO-H, b) PtNps/ rGO-U, c) Pt-Ru Nps/ rGO-H y d) Pt-Ru Nps/rGO-U

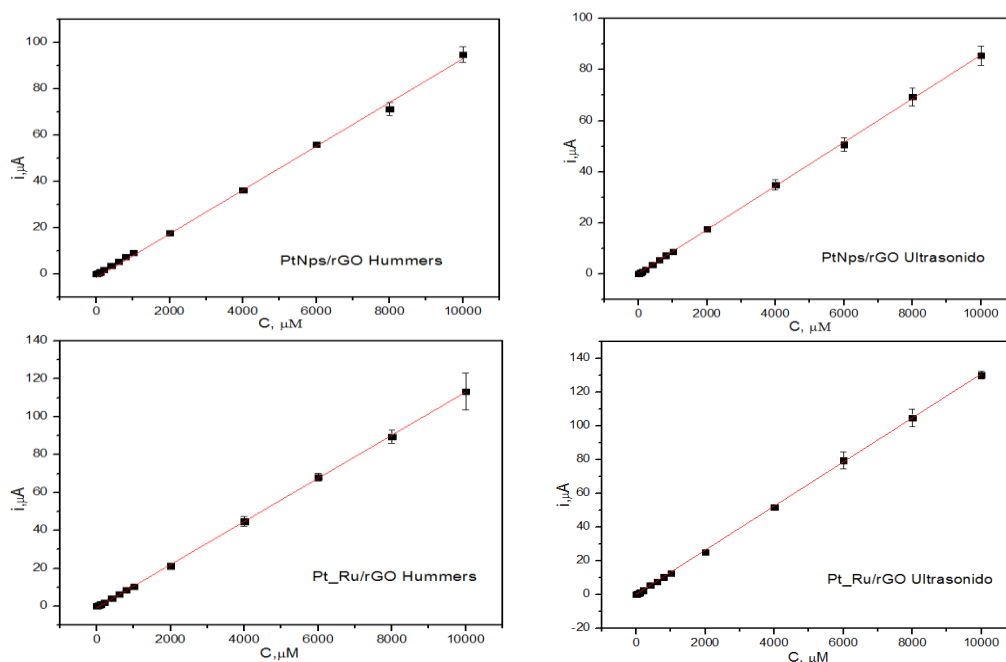


Figura S2. Curvas de Calibración para todos los nanomateriales obtenidos (barras de error para 4 electrodos) $E_{app}=+0.3$ V $t=60$ s